

Аспирант О.В.Сафронова, профессор Л.А. Самофалова,
(Гос. университет - УНПК) кафедра сельскохозяйственных наук
С.В. Бобков
(ГНУ ВНИИ ЗБК г. Орёл)

Биологическая модификация семян сои и получение целевых напитков

Исследована динамика содержания антиалиментарных факторов в белковом комплексе семян сои при прорастании и разработаны технологии новых целевых продуктов, обогащённых *B. Bifidum*.

The dynamics of the content antinutritive factors in the protein complex of soybean seeds during germination were investigated and the new technologies targeted products, enrichment *B. Bifidum* was developed

Ключевые слова: белковый комплекс семян сои, антипитательные компоненты, биотехнология проращивания, культивирование *B. Bifidum*

Использование сои в производстве целевых продуктов связано с её богатым составом, а присутствие в бобах помимо высококачественных белков, дополнительных бифидогенных факторов - олигосахаридов, проявляющих по отношению к представителям рода *Bifidobacterium* селективные свойства, расширяют возможности её использования в молочной отрасли. [1, 2]. Вместе с тем известно, что бобы сои, обладая высокой пищевой и биологической ценностью, характеризуются наличием антиалиментарных компонентов: ингибиторов протеаз, лектинов, фитатов, сапонинов, алкалоидов, олигосахаридов. Среди методов, способствующих инактивации данной группы веществ, в литературе приводятся сведения о применении биотехнологии проращивания семян [4].

Цель работы заключалась в снижении содержания антиалиментарных факторов в белковом комплексе семян сои путём биомодификации при прорастании и в разработке технологии новых пробиотических продуктов.

В рамках поставленной цели решались следующие задачи:

- определение условий проращивания *in vitro* и выявление физиологического состояния семян с эффективно сниженным антипитательным комплексом по белковому составу и динамике активности ингибиторов протеаз;
- определение технологических параметров обработки биоактивированных семян для получения соевой основы;

- изучение возможности культивирования *B. Bifidum* в полученном биосубстрате и смеси субстрат-молоко;

- разработка технологии сквашенных напитков целевого назначения, комплексная оценка качества и конкурентоспособности.

Основными объектами исследования являлись семена сои районированных сортов - Свапа и Ланцетная, предоставленные ГНУ ВНИИ ЗБК г. Орел, имеющие сниженную трипсинингибирующую активность (ТИА – до 14 мг/г, ХИА - до 5 мг/г) и высокое содержание протеина - до 40,5% с.в. Исследовали также полученные биопродукты: соевую основу, смесь – соевая основа : молоко коровье; напитки молочносодержащие сквашенные.

В качестве источника *B. bifidum* использовали коммерческие препараты «Бифидум-бактерина», содержащих сухие препараты живых клеток штамма *B. bifidum*-1, произведенных ЗАО «Экополис» (г. Ковров) и ФГУП «НПО Микроген» (г. Ставрополь).

Пробы семян сои для проращивания исследовались по физиологическим показателям: энергии прорастания, способности прорастания, результаты пересчитывались на всю массу зерна. Период проращивания в диапазоне от 0 до 60 ч с интервалом 12 ч. Дифференциацию физиологического состояния проводили методом отбора фракций из популяции по морфологическим признакам в указанном интервале от продолжительности инкубации. Тестирование физиологического состояния проводили по изменению биохимических показателей семян

в состоянии покоя, набухания и прорастания, сопоставляя с результатами анализа пептидного состава по электрофорезу [3].

Изменения в полипептидном комплексе, в том числе в зонах расположения лектинов при прорастании сои, определяли высокочувствительным методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле по методике В. Г. Конарева (1998).

Выделение лектинов из семян сои проводили по методу Г. Я. Алексидзе и др. (1983), гемагглютинирующую активность определяли по реакции агглютинации эритроцитов человека групп крови по методу Э. И. Выскребенцевой (1997). Активность ингибиторов трипсина и химотрипсина (ТИА, ХИА) в семенах сои определяли казеинолитическим методом М. Л. Какейда в модификации И. И. Бенкен (1983).

Компьютерную обработку электрофореграмм проводили на денситометре по светимости белковых компонентов с помощью программы «Biotest –D».

Изменение морфологии, микроструктуры клеток эндосперма прорастающих семян сои изучали в режиме низкого вакуума ($P = 60$ Па/с) с помощью электронного сканирующего микроскопа YSM-6390 - Япония.

При разработке технологии соевой основы проводили статистический анализ влияния степени измельчения (0,5-1) и дозы облучения (ультрафиолетовый диапазон волн 253,7-265,2 нм, в режиме от 0 до 14') семян сои на содержание ингибиторов и посторонней микрофлоры в трёх физиологических состояниях – сухие, набухшие и прорастающие. Облучение применялось для ликвидации вегетативной микрофлоры, способствующей усилению бобового запаха и горечи.

Количественный учет бифидобактерий проводили методом предельных разведений на стандартной среде ГМК -1. Посевы делали сразу после внесения штамма в исследуемых образцы и после 48 ч культивирования. Изучение морфологии микроорганизмов проводилось методом микроскопирования окрашенных фуксином фиксированных препаратов на микроскопах «БиоЛам» при увеличении 15х90, Axioscop 2 MAT с увеличением $\times 500$, получение фотографий, опреде-

ление размеров клеток выполняли с помощью программы Axio Vision Graphite.

Анализ данных физиологической активности прорастающих семян позволил сделать выбор в пользу сорта Свапа. Технологические параметры запуска процессов прорастания следующие: оптимальное время замачивания 6-8 ч в сменной воде, орошение, температура $20 \pm 2^\circ\text{C}$, соотношение семяна - вода 1:4 – 1:6.

При сопоставлении результатов изменения биохимических показателей (активность ионов водорода, буферная ёмкость) с проявлением морфологических признаков смены физиологических фаз были выделены граничные состояния, по которым проводились дальнейшие исследования. Установлено, что показатель рН клеточной протоплазмы набухающих и прорастающих семян находится в диапазоне 6,5-6,8, что соответствует культуральным характеристикам *B. bifidum*-1. Факт наличия у растительных вытяжек из прорастающих семян буферных свойств, принят во внимание при разработке технологии растительной основы и комбинированных продуктов.

Методом гель-электрофореза белкового комплекса выявлены структурные изменения в пептидном составе сухих, набухающих и прорастающих семян по всему спектру в диапазоне от 0 до 48 ч, существенные различия заметно выявляются к 48 ч от достижения критической влажности.

Установлено также, что выделенные лектины сои представляют собой гетерогенный белковый комплекс с 11 пептидными зонами различной электрофоретической подвижности. Набухание и запуск прорастания последовательно приводят к размыванию, распаду пептидных зон и синтезу новых.

Динамика изменения гемагглютинирующей активности имеет следующий характер: резкое снижение к 12 ч инкубирования (на 95% по сравнению с сухими семенами) сменяется постепенным ростом в последующих физиологических фазах, не достигая первоначального значения.

Динамика активности белковых ингибиторов трипсина и химотрипсина (ТИА; ХИА) также изменяется в сторону снижения, соответственно на 88 % и 56 % (рисунок 1).

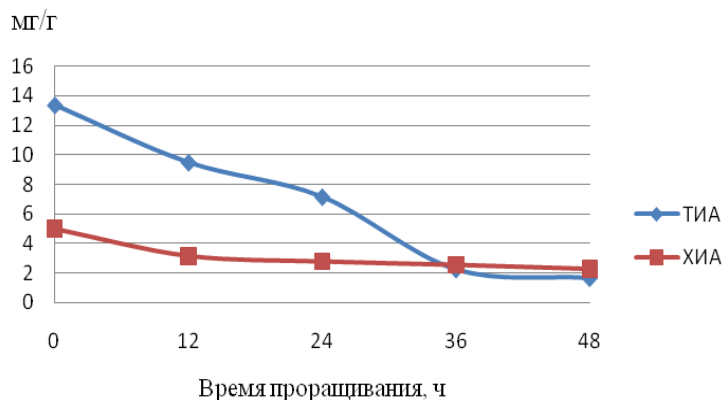


Рисунок 1 - Содержание ингибиторов трипсина и химотрипсина в семенах сои сорта Свапа в разных фазах прорастания, мг/г.

Таким образом, было установлено, что наиболее благоприятными фазами являются 24-36 ч инкубирования семян. По морфологическим признакам это появление ростков до 1 мм у более 50% семян в популяции.

В эти же сроки прорастания выявлено увеличение содержания водорастворимых витаминов: В₁ на 135-242%, В₂ – 230-290%, В₃-119-152%, С – 116-315 %.

Статистическая обработка результатов серийных испытаний влияния технологиче-

ских параметров (дозы облучения и степени измельчения) и физиологического состояния семян сои на активность ингибиторов и микробную обсеменённость позволила разработать технологию соевой основы со сниженными антипитательными свойствами [4].

Полученная основа представляет собой устойчивую полидисперсную систему, по пищевой ценности полноценный продукт, сопоставимый с коровьим молоком (таблица 1).

Т а б л и ц а 1
Характеристика основы из прорастающих семян сои в сравнении с молоком коровье

Наименование показателя	Соевая основа	Молоко коровье
Массовая доля сухих веществ, %	8,0±0,5	11,0
Массовая доля белка, %	1,9±0,5	3,2
Массовая доля жира, %	1,4±0,3	2,5
Массовая доля углеводов, %	4,8±0,8	4,7
Аскорбиновая кислота (С), мг%	2,90	0,3-2,8
Никотинамид (РР), мг%	1,95	0,1
Пантотеновая кислота (В ₃), мг%	5,81	0,38
Тиамин (В ₁), мг%	1,24	0,2-0,7
рН	6,6-7,2	6,6-6,7
Плотность, при 20°С, г/см ³	1,012	1,027
Стабильность дисперсии при 20°С, %	100	100
Кислотность, °Т	9	18-20

Таким образом, в соевой основе присутствуют необходимые для *B. bifidum* питательные вещества, которые являются внешними бифидогенными факторами для их выращивания в питательных средах. В соевой основе также присутствуют вещества, которые способствуют приживаемости пробиотиков в кишечнике (внутренние бифидогенные факторы, пребиотики-олигосахариды).

Было проведено исследование биопродукта в качестве питательной среды для культивирования *B. bifidum*.

При культивировании бифидобактерий на соевой основе наблюдался рост колоний в разведении 10⁶ - 10⁸.

Сравнение активности роста бифидобактерий на биопродукте и смеси основа - молоко коровье (1:1) показало, что на смеси рост колоний происходит активнее (таблица 2).

Сравнение активности роста *B. bifidum* на соевой основе и смеси основы и молока (1:1)

	Количество колоний в разведении			Тип колоний
	х10 ⁶	х10 ⁷	х10 ⁸	
Соевая основа				
При внесении активированного бакпрепарата	3	-	-	гвоздики
После 48ч культивирования	10	6	6	кометы, пучки
Соевая основа: молоко коровье (1:1)				
При внесении активированного бакпрепарата	ДК	16	-	гвоздики
После 48 ч культивирования	СР	ДК	10	кометы

Установлено, что соевая основа из прорастающих семян и смесь основа - молоко (1:1) обладают стимулирующим действием на рост *B. bifidum*, что связано с присутствием в биопродукте продуктов неполного расщепления клеточных полимеров – пептидов, ди- и моноглицеридов, олиго- и моносахаридов, обогащённого витаминного состава, биологически активных веществ, накопленных при запуске прорастания [3].

Сквашивание молокосодержащей смеси (50:50), проводили 3 опытными образцами заквасочных культур (1- *Lactococcus lactic*, *Acetobacter aceti*; 2 - *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*; 3- кефирные грибки), с добавлением в каждый образец *B. bifidum* -1. Полученные образцы оценивались по органолептическим показателям и по кислотности на конец сквашивания смеси.

На основе полученных данных была составлена смесь чистых культур: термофильного молочнокислого стрептококка (*Streptococcus thermophilus*) и молочнокислой болгарской палочки (*Lactobacillus bulgaricus*) с добавлением *B. bifidum* -1 в соотношении 1:1:2. Титруемая кислотность готовых продуктов - 65 °Т, что ниже на 5-10 °Т по сравнению с традиционными кисломолочным, как установлено при дегустации, это положительно сказывается на качестве продукта, т.к. потребители обычно предпочитают слабокислый вкус.

Полученные результаты положены в основу разработки сквашенных напитков целевого назначения.

По результатам исследования изменений в белковом комплексе и динамике активности ингибиторов протеаз выявлено физиологическое состояние прорастающих семян с эффективно сниженным антипитательным комплексом - оптимальная фаза проращивания составляет 36 ч.

Методом математической статистики определены параметры получения биопродукта – соевой основы со сниженными антипитательными свойствами, разработана и апробирована технология основы.

Доказана возможность использования соевой основы в качестве питательной среды для культивирования *B. bifidum* -1 и выявлена динамика роста на субстрате из соевой основы и смеси основа - коровье молоко.

Получены напитки молокосодержащие сквашенные целевого назначения [5]. Общий экономический эффект, полученный при производстве по сравнению с производством традиционных продуктов составляет 15-20%.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Артюхова, С. В. Научно-экспериментальное обоснование новых биотехнологий синбиотических молочных продуктов [Текст]: автореф. дис. ... докт. техн. наук: 03.00.23 / С. В. Артюхова. - Улан-Удэ, 2006. -43 с.
- 2 Бархатова, Т. В. Создание технологий синбиотических продуктов на основе растительных олигосахаридов [Текст]: автореф. дис. ... докт. техн. наук: 05.18.04, 05.18.07 / Т. В. Бархатова. - Ставрополь, 2003. - 48 с.
- 3 Самофалова, Л. А. Биоактивация белкового комплекса двудольных семян при прорастании и перспективы использования в технологии растительных аналогов молока [Текст] / Л. А. Самофалова // Хранение и переработка с/х сырья. - 2008. - № 11. - С. 40-43.
- 4 Пат. № 2312506 Способ производства кисломолочного продукта [Текст] / Л. А. Самофалова, О.В. Сафронова; опубл. 20.12. 2007, Бюл. № 35.
- 5 Пат. № 2338432 Способ получения растительного напитка [Текст] / Л. А. Самофалова, О. В. Сафронова; опубл. 20.11.2008, Бюл. № 32.

REFERENCES

1 Artyuhova, S. V. Scientific substantiation of an experimental new biotechnologies synbiotic dairy products [Text]: abstr. diss. ... ScD: 03.00.23 / S. V. Artyuhova. - Ulan-Ude, 2006. – 43 p.

2 Barkhatova, T. V. Creating technology synbiotic products based on vegetable oligosaccharides [Text]: abstr. diss. ... ScD: 05.18.04, 05.18.07 / T. V. Barkhatova. - Stavropol, 2003. – 48 p.

3 Samofalova, L. A. Bioactivation protein complex bipartite seeds during germination and prospects for the use of technology in vegetable analogues of milk [Text] / L. A. Samofalova // Storage and processing of agricultural raw materials. - 2008. - № 11. - P. 40-43.

4 Pat. № 2312506 Method of production of fermented milk product [Text] / L. A. Samofalova, O. V. Safronova; publ. 20.12.2007, Bull. №. 35.

5 Pat. №. 2338432 Method of vegetable drink [Text] / L. A. Samofalova, O. V. Safronova; publ. 20.11.2008, Bull. № 32..